

# LED의 파장 및 광도, 공기주입이 *Pavlova lutheri*와 *Phaeodactylum tricornutum*의 최적 성장에 미치는 영향

최보람<sup>1</sup>, 김동수<sup>2</sup>, 이태윤<sup>1\*</sup>

## Effect of Light-Emitting Diode Wavelength, Light Intensity and Air Flow Ratio on Optimal Growth of *Pavlova lutheri* and *Phaeodactylum tricornutum*

Bo-Ram Choi<sup>1</sup>, Dong-Soo Kim<sup>2</sup>, and Tae-Yoon Lee<sup>1\*</sup>

접수: 2013년 1월 22일 / 게재승인: 2013년 6월 5일  
© 2013 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** The purpose of this study was to determine optimum condition of *Pavlova lutheri* and *Phaeodactylum tricornutum*. Detailed studies were carried out on the effects of various wavelengths of light-emitting diodes (LEDs), light intensities and air flow ratios. For the *Pa. lutheri*, cell growth rates and maximum cell concentrations were similar regardless of wavelengths and air flow rates. Among the different light intensities, cell concentration increased when light intensity of red LED increased. For *Ph. tricornutum*, red LED was found to be the most effective light source, and light intensity of 3,100 Lux resulted in the most effective for the cultivation of *Ph. tricornutum*. Different air flow rates were tested to overcome shading effects due to denser cell concentration in the solution. Aeration of 0.8 vvm was determined to be the optimum aeration rate for the cultivation of *Ph. tricornutum*. Especially, five and two times greater cell concentrations of *Pa. lutheri* and *Ph. tricornutum*, respectively, were observed when air was applied.

**Keywords:** Light-emitting diode, Light intensity, Air flow ratio, *Pavlova lutheri*, *Phaeodactylum tricornutum*

### 1. 서론

해양 생물 자원인 미세조류는 빛을 에너지원으로 태양광을 사용하여 이산화탄소를 고정화하여 유용물질을 생산하는 특징을 가지고 있다. 자연계의 탄소 순환 메커니즘에서 광합성 생물인 미세조류를 사용하여 이산화탄소를 흡수시키는 것은 친환경적인 방법이다. 이러한 미세조류 배양을 통해 산업적으로 유용한 유용물질을 생산하려는 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 이를 위해 고농도 배양 및 성장 속도 향상 등의 많은 연구가 수행되고 있다 [1-3]. 일반적으로 바이오매스는 광합성으로 생성되는 유기물을 의미하는데 [4], 미세조류는 광합성을 통해 배양되며 생성된 바이오매스 및 산업적 유용물질은 종에 따라 건강보조식품, 사료, 화장품, 신약 개발원료, 수송 연료 등 여러 방면으로 활용 될 수 있다. 최근에는 단세포 조류에 의한 기름이나 지방산의 생산에 관심이 모아지고 있다. 영양보충제로서 docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA)와 같은 긴사슬 불포화 지방산이 대표적 예가 된다. DHA는 22개의 탄소원자와 6개의 이중결합으로 이루어졌으며, 인간의 신경 조직에 많이 분포하는 지방산이다 [5]. EPA는 20개의 탄소원자와 5개의 이중결합을 갖는 탄소화 2중결합은 갖은 긴사슬 불포화 지방산이며, 미세조류 중에서 규조류, 황갈조류, 갈색편모조류, 와편모조류

<sup>1</sup>부경대학교 환경공학과  
<sup>1</sup>Department of Environmental Engineering, Pukyong National University, Busan 680-737, Korea  
Tel: +82-51-629-6530, Fax: +82-51-629-6523  
e-mail: badger74w@pknu.ac.kr

<sup>2</sup>부경대학교 해양바이오신소재학과  
<sup>2</sup>Department of Marine Bio-materials and Aquaculture, Pukyong National University, Busan 680-737, Korea

등이 고농도의 긴사슬 불포화 지방산을 생산하는 것으로 알려져 있다. 규조류인 *Phaeodactylum*은 총지방산의 35% 이상이 EPA로 구성되었음이 보고되었다 [6]. 착편모조류인 *Pavlova* 또한 EPA 및 DHA 함량이 높아 널리 사용되고 있다 [7,8].

미세조류 대량배양의 실제적 방법은 개방형 배양인 수로형 연못 (raceway pond) 배양과 밀폐형 배양인 광생물반응기 (photobioreactor) 배양으로 구분할 수 있다. 개방형 배양의 경우 세포의 농도가 높아지면 빛이 균일하게 투과하지 못하게 되며 [9], 다른 미세조류에 의한 오염에 크게 영향을 받는다. 또한 빛의 받는 표면적을 증가시키기 위해서는 넓은 면적이 필요로 하게 되는데 이는 우리나라의 경우 극히 비경제적이라 할 수 있다 [10].

현재는 밀폐형 배양인 광생물 반응기를 사용하여 미세조류 대량배양을 위한 다양한 연구가 진행되고 있다 [11-13]. 미세조류의 밀폐형 배양에서 빛을 배양액 내부까지 효율적으로 전달하기 위한 연구와 [14,15], 빛의 세기에 의해 광합성 효율과 능력이 달라지므로 이에 따른 연구가 진행되었다 [16,17]. 미세조류 인공배양에 있어서 광원 및 광세기는 광합성을 조절하는 중요한 요인으로, 미세조류의 광합성 성장에 있어 가장 중요한 요소로 인식되고 있다 [18]. 개방형 배양의 경우 태양광을 사용하나 밀폐형 배양의 경우에는 형광등을 일반적인 광원으로 사용한다. 그러나, 형광등의 경우 높은 유지비용과 과도한 발생열로 인해 배양에 나쁜 영향을 주기도 한다. 백열등은 소비전력의 5~10%만은 빛으로 전환하지만 LED (light-emitting diode)의 경우 90%를 빛으로 변환하기 때문에 백열등의 10배, 형광등의 2배 정도의 밝기를 내며, 에너지 효율성 측면에서 큰 강점을 갖는다 [19]. 또한 LED의 수명은 약 10만 시간 정도로 반영구적이다. 이는 기존 전구의 수명이 3,000~8,000시간에 대비하여 매우 긴 시간을 가지므로 광원에 대한 유지보수비를 대폭 절감 할 수 있다. LED는 무수은의 광원으로 환경적인 측면도 포함한다. 보다 경제적이고 수명이 긴 광원에 대한 연구가 수행이 되었으며, 많은 연구결과에서 LED가 형광등에 비해 배양효율 및 경제성이 높은 것으로 판명되었다 [18,20]. 또한 LED는 부피가 작아서 광생물 반응기 안에 직접적으로 배치가 가능하여 내부 조명을 통해 효율성 측면에서 빛의 손실을 최소화 할 수 있으며, 해당 미세조류의 광합성에 필요한 파장의 빛만 선택적으로 공급하여 전체적인 빛의 이용효율을 높일 수 있으므로 경제적 배양이 가능한 것으로 보고 되었다 [21-23].

본 연구에서는 *Pavlova lutheri*와 *Phaeodactylum tricornutum*를 고농도로 배양하기 위한 광원, 광세기, 혼합의 최적화된 조건을 찾기 위해 발광다이오드를 이용하여 다양한 파장, 광도 및 공기 주입이 성장에 미치는 영향을 연구를 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 사용 균주 및 배지

본 연구에 사용된 미세조류는 착편모조강 (Haptophyceae)인

*Pa. lutheri*와 규조강 (Bacillariophyceae)인 *Ph. tricornutum*을 한국해양 미세조류은행 (KMMCC, Korea)로부터 분양받았다. 사용된 배지는 F/2 배지로 성분은 Table 1에 나타낸 바와 같으며 121°C에서 15분간 멸균하여 사용하였다.

### 2.2. 배양 방법

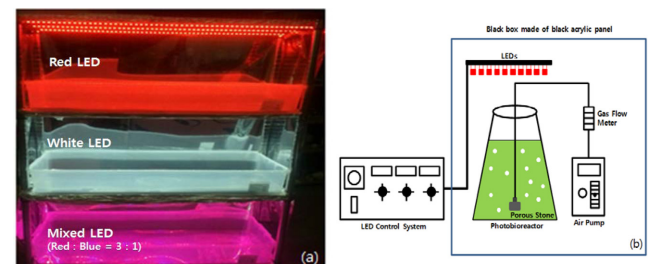
*Pa. lutheri*와 *Ph. tricornutum*의 성장 실험을 위한 반응기는 가로 55 cm, 세로 35 cm, 높이 46 cm의 반응 시스템을 구축하였다 (Fig. 1(a)). 고농도 세포 배양에 필요한 성장 특성을 찾기 위하여 파장, 광도, 교반 속도를 변화시키며 세포 성장에 미치는 영향을 조사하였다.

전배양은 50 mL의 F/2 배지가 함유된 100 mL 삼각 플라스크에 21~23°C, 3,000 Lux, 공기 주입은 하지 않은 조건에서 수행되었으며, 계대배양은 일주일 간격으로 수행하였다. 플라스크 배양은 각 실험 조건에 따라 500 mL 코니칼 비이커를 사용하여 희석한 초기 배양액을 접종하여 계획한 초기농도 ( $4.0 \times 10^4$  cells/mL)로 맞춘 후 파라필름을 이용해 비커의 입구를 막은 후 미세 구멍을 뚫어 주었다.

파장에 따른 성장속도를 비교하기 위하여 광원으로 red LED (660 nm), white LED (Product code: VSL55-81w), Mixed LED (red(660 nm) : blue(450 nm) = 3:1)를 사용하였으며 LED 램프는 S-tech LED사로부터 bar 형식의 LED램프를 구입하여 실험하였다. 파장에 따른 성장변화 실험의 경우 투입 전력은 60 W로 모두 일정하지만 white (6,200 Lux) > red (2,600

**Table 1.** The composition of F/2 medium (Unit: mg/L, Filtered sea water)

Component	Contents
NaNO <sub>3</sub>	150
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8.69
Ferric EDTA	10
MnCl <sub>2</sub>	0.22
CoCl <sub>2</sub>	0.11
CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	0.0196
ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	0.044
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> · 9H <sub>2</sub> O	50.0
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.012
Vitamin B <sub>12</sub>	1.0 µg
Biotin	1.00 µg
Thiamine · HCl	0.2 µg
Filtered seawater	1 L



**Fig. 1.** Photograph of photo-reactor illuminated by LEDs (a) and schematic diagram (b).

Lux) > mixed (2,300 Lux)로 다른 조도값을 가졌다. LED Grow Control System (SF-302-1K, KAST Engineering Co., Korea)를 이용하여 전력은 60 W로 일정하게 공급하였으며, 광도는 조도계 (I-346 Illuminometer, Sekonic Co., Philippines)를 사용하여 측정하였다. 광도에 따른 성장특성을 위해 red LED를 선택하여 광도를 850, 1,700, 3,200 Lux로 증가시키면서 실험하였다. 광도의 조절은 반응시스템 외부에 둘러싼 반사판의 개폐정도에 따라 조절하였다. 공기 공급 및 공급 속도가 성장에 미치는 영향을 알아보기 위한 배양에서는 반응기의 바닥 부분에 산기석 (porous stone)을 고정시켜 에어펌프를 조정하여 공급 속도 0.4, 0.8, 1.6 aeration volume/medium volume/minute (vvm)으로 조절하였다 (Fig. 1(b)). 배양 중 발생할 수 있는 미생물의 오염여부는 현미경으로 조사하였다. 온도조절은 실험실에 설치된 온도 조절장치를 이용하여 반응기의 온도를 21~23°C로 일정하게 유지하였다. 배양액의 온도는 수온도계를 이용하여 측정하였다.

### 2.3. 분석방법 및 데이터 해석

세포 성장을 알아보기 위해 미세조류의 농도는 UV spectrophotometer (Genesys 10UV, Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하여 540 nm에서 측정하였다. 세포 농도 (cells/mL)와 흡광도의 관계를 알기 위해서 혈구계수기 (Hemocytometer)를 이용하여 세포수를 광학 현미경 (BA210, Motic, China)으로 직접 계수하였다. 세포 수 측정은 일정량의 세포 부유액을 혈구계수기 넣고 눈금 안에 보이는 cell 수를 현미경으로 측정하여 단위 부피당 세포 수 (cells/mL)를 계산하는 방법이다.

흡광도와 세포농도와 상관계수를 조사한 결과, *Pa. lutheri*는 흡광도 =  $0.00000009 \times$  세포농도(상관관계 = 0.99)의 관계를 얻었으며 *Ph. tricorutum*는 흡광도 =  $0.00000007 \times$  세포농도(상관관계 = 0.999)의 관계를 얻었다.

초기 접종 시 세포 농도의 오차를 줄이기 위해 광학 현미경을 이용하여 확인하였으며, 배양액 10  $\mu$ L를 취해서 3회 반복한 평균값으로 세포 수를 구하였다.

비증식속도 (specific growth rate)는 다음의 식으로 계산하였다.

$$\mu_{\max} = (\ln x/x_0) \cdot t^{-1} \quad (1)$$

여기서  $\mu$ 는 비증식 속도 ( $\text{day}^{-1}$ ),  $x_0$ 는 초기 농도 ( $t=0$ ),  $x$ 는 일정 배양 시간 후의 *Pa. lutheri*와 *Ph. tricorutum*의 최대 농도 (cells/mL), 그리고  $t$ 는 배양 시간 (day)을 나타낸다. Y축을  $\ln(x/x_0)$ , X축을  $t$ 로 한 성장곡선은 일반적으로 비성장 속도가 시간 0에서 시작하여 지체기 (lag phase)를 지난 후 대수성장기 (exponential phase)를 거치면서 가장 큰 기울기 값을 가지게 되며, 성장속도의 최대점에 도달하게 된다. 본 연구에서의 최대 비증식 속도는 식 (1)을 이용하여 계산되어진 비증식 속도 값 중 가장 큰 값을 사용하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 파장에 따른 성장 변화

*P. lutheri*와 *P. tricorutum*의 파장에 따른 성장 특성을 파악하기 위해 3가지 파장을 이용하여 배양하였으며, Fig. 2에 파장에 따른 성장곡선이 나타나있다.

Red, white, mixed LEDs를 이용한 배양에서 *Pa. lutheri*의 경우 mixed LED에서  $0.85 \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높은 성장속도를 보였으며  $0.71 \text{ day}^{-1}$  (white),  $0.56 \text{ day}^{-1}$  (red) 순으로 감소하였다. 최대 비성장 속도는 mixed, white, red LED 다소 차이를 보였으나, 최대 세포 농도는  $2.19 \times 10^6 \text{ g/L}$  (red),  $2.37 \times 10^6 \text{ g/L}$  (white),  $2.38 \times 10^6 \text{ g/L}$  (white)로 모두 비슷한 값을 얻었다 (Table 2).

*Ph. tricorutum*의 파장에 따른 성장 특성은 red LED에서  $0.78 \text{ day}^{-1}$ 로 가장 높은 성장속도를 보였으며  $0.76 \text{ day}^{-1}$  (white),  $0.63 \text{ day}^{-1}$  (mixed) 순으로 감소하였다. 최대 세포 농도는  $3.78 \times 10^6 \text{ g/L}$  (red),  $3.56 \times 10^6 \text{ g/L}$  (white),  $2.70 \times 10^6 \text{ g/L}$  (mixed)로 red LED에서 가장 좋은 효율을 보였다 (Table 3).

두 종류 미세조류의 파장에 따른 성장특성을 비교해 볼 때, *Pa. lutheri*의 경우 초기 배양 5~6일 동안 성장률의 차이가 보이는 듯하였으나, 약 20일 간의 배양 결과 파장에 따른 유의한 성장차이는 보이지 않았다. *Ph. tricorutum*의 경우 배양 5~6일 이후에 red와 white LED를 이용한 세포 농도가 급격히

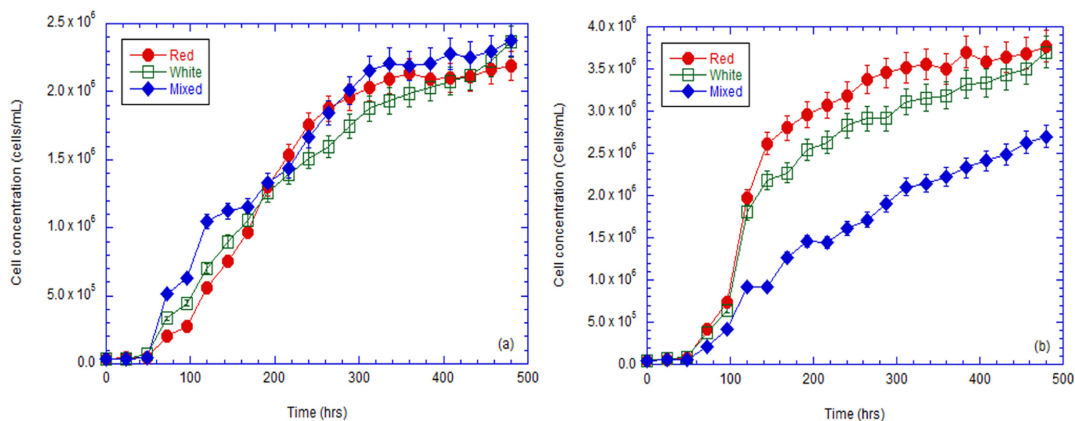


Fig. 2. Growth curve of *P. lutheri* (a) and *P. tricorutum* (b) in the reactor at different LEDs.

**Table 2.** The maximum cell concentration and the specific growth rate of *Pa. lutheri* under different test conditions

Test Set	LEDs	Light Intensity (Lux)	Specific growth rate (day <sup>-1</sup> )	Initial cell concentration (cells/mL)	Maximum cell concentration (cells/mL)
1	Red	2,600	0.56	4.0×10 <sup>4</sup>	2.19×10 <sup>6</sup>
	White	6,200	0.71	4.0×10 <sup>4</sup>	2.37×10 <sup>6</sup>
	Mixed (red:blue=3:1)	2,300	0.85	4.0×10 <sup>4</sup>	2.38×10 <sup>6</sup>
2	Red	850	0.67	4.0×10 <sup>4</sup>	1.88×10 <sup>6</sup>
	Red	1,700	0.60	4.0×10 <sup>4</sup>	1.99×10 <sup>6</sup>
	Red	3,100	0.54	4.0×10 <sup>4</sup>	2.19×10 <sup>6</sup>
3	Red + Air (0.4 vvm)	3,100	0.56	4.0×10 <sup>4</sup>	1.13×10 <sup>7</sup>
	Red + Air (0.8 vvm)	3,100	0.57	4.0×10 <sup>4</sup>	1.13×10 <sup>7</sup>
	Red + Air (1.6 vvm)	3,100	0.54	4.0×10 <sup>6</sup>	1.22×10 <sup>7</sup>
	Red + Air (2.4 vvm)	3,100	0.49	4.0×10 <sup>6</sup>	1.20×10 <sup>7</sup>

**Table 3.** The maximum cell concentration and the specific growth rate of *Ph. tricornutum* under different test conditions

Test Set	LEDs	Light Intensity (Lux)	Specific growth rate (day <sup>-1</sup> )	Initial cell concentration (cells/mL)	Maximum cell concentration (cells/mL)
1	Red	2,600	0.78	4.0×10 <sup>4</sup>	3.78×10 <sup>6</sup>
	White	6,200	0.76	4.0×10 <sup>4</sup>	3.56×10 <sup>6</sup>
	Mixed (red:blue=3:1)	2,300	0.63	4.0×10 <sup>4</sup>	2.70×10 <sup>6</sup>
2	Red	850	0.56	4.0×10 <sup>4</sup>	1.57×10 <sup>6</sup>
	Red	1,700	0.69	4.0×10 <sup>4</sup>	2.81×10 <sup>6</sup>
	Red	3,100	0.78	4.0×10 <sup>4</sup>	3.77×10 <sup>6</sup>
3	Red + Air (0.4 vvm)	3,100	0.78	4.0×10 <sup>4</sup>	7.94×10 <sup>6</sup>
	Red + Air (0.8 vvm)	3,100	0.78	4.0×10 <sup>4</sup>	9.14×10 <sup>6</sup>
	Red + Air (1.6 vvm)	3,100	0.78	4.0×10 <sup>6</sup>	9.17×10 <sup>6</sup>
	Red + Air (2.4 vvm)	3,100	0.70	4.0×10 <sup>6</sup>	7.96×10 <sup>6</sup>

증가하는 등 파장에 따른 뚜렷한 성장 차이를 보였다 (Fig. 2).

광합성 생물인 미세조류의 경우 광합성에 중심적 역할을 하는 엽록소 a가 존재하며, 엽록소 b, c, d는 선택적으로 존재하는데 본 연구에 사용된 두 종의 미세조류는 엽록소 c를 갖는다. 엽록소를 구성하는 주 색소인 chlorophyll a의 영향으로 적색광(630~700 nm)을 많이 흡수하여 red LED에서 다른 파장에 비하여 높은 효과를 기대하였으나, 본 연구결과 *Pa. lutheri*의 경우 파장별 큰 차이를 보이지 않았으며, *Ph. tricornutum*의 경우 red와 white LED에서 비슷한 효율을 얻었다. 파장별 세포 성장효율은 미세조류 종(species)에 따른 흡수 특성 등 광합성 특성의 차이로 각 종에 따라 달랐으며, 이는 미세조류의 성장특성을 일반화시키기 어렵다는 것을 보여준다.

### 3.2. 광도에 따른 성장 변화

위의 결과에서 red LED가 가장 효과적이라 판단되어, 광도에 따른 성장 특성을 알아보기 위해 red LED의 광도를 850 Lux에서 3,100 Lux로 증가시키면서 실험하였다.

*Pa. lutheri* 배양에서는 850 Lux에서 0.67 day<sup>-1</sup>, 1,700 Lux에서 0.60 day<sup>-1</sup>, 3,100 Lux에서 0.54 day<sup>-1</sup>로 최대 성장 속도는 광도가 높을수록 낮았지만, 배양 5~6일부터 3,100 Lux에서 상대적으로 세포 농도가 높게 증가하여 광도가 높을수록 높은 최대 농도를 얻었다 (Fig. 3(a)). 그러나 최대 성장속도 및 최대 세포농도가 광도에 따라 크게 차이는 없는 것으로 판단되었다. 이는 온도, 조도, 배지, 염분 영향은 *Pa. lutheri*의 성장

에 유의한 차이를 보이지 않았다는 연구와도 일치한다 [24].

*Ph. tricornutum* 배양에서는 850 Lux에서 0.56 day<sup>-1</sup>, 1,700 Lux에서 0.69 day<sup>-1</sup>, 3,100 Lux에서 0.78 day<sup>-1</sup>로 최대 성장 속도는 광도에 비례하여 증가하였다. 배양 5~6일부터 3,100 Lux에서 세포 농도는 낮은 광도 (850 Lux, 1,700 Lux)에 비해 급격히 증가하여 가장 높은 최대 세포농도 (2.19×10<sup>6</sup> cells/mL)를 얻었으며, 최소 광도 조건인 850 Lux에서 가장 낮은 최대 세포농도 (1.88×10<sup>6</sup> cells/mL)를 얻었다 (Fig. 3(b)). 이는 *Ph. tricornutum*의 배양에 대한 광도 범위가 3,000~5,000 Lux라고 보고 된 것과 일치하였다 [25]. 조도의 값이 증가함에 따라서 높은 성장률이 관찰 되었으며, 낮은 조도에서는 빛이 제한되어 낮은 균체 농도를 얻었다. 본 실험에서는 매우 높은 수치의 조도 실험은 수행하지 못하여 빛의 포화상태에서의 균체의 성장 정도를 비교 할 수 없었으나, 조도에 따라서 세포의 배양이 제한될 수 있음을 확인하였다.

### 3.3. 공기 공급 속도 따른 성장 변화

생물반응기에서 혼합은 필수적이며 적당한 혼합은 세포들을 부유 상태로 유지시켜 줄 뿐만 아니라 온도 구배나 농도 구배를 최소화 시켜준다. 혼합으로 인해 그림자 효과를 줄일 수 있고 광 저해를 최소화 할 수 있어서 더욱 중요하다. 즉 적당한 혼합은 총광 광자 이용률을 증가시킬 수 있는데, 혼합의 방법 중 하나가 Sparging (공기방울을 주입함으로써 혼합을 유도하는것)이다. Sparging은 공기방울의 존재가 빛이 생물



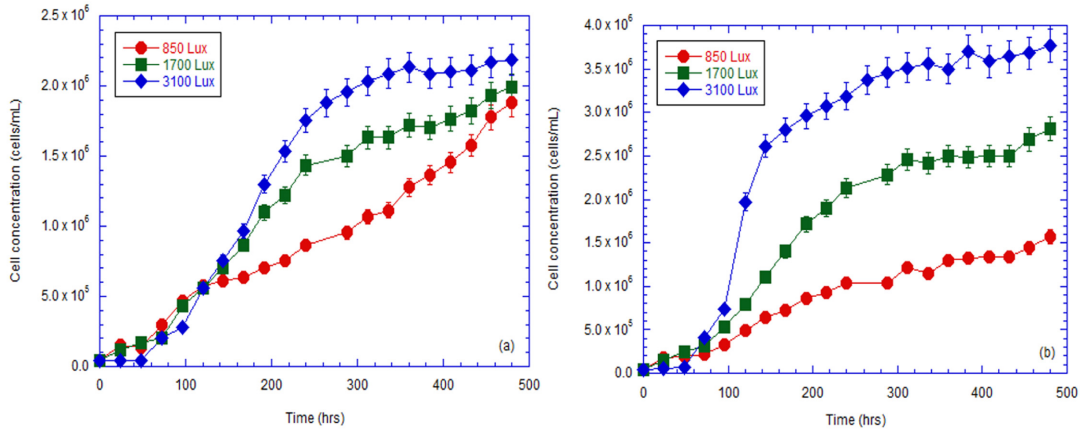


Fig. 3. Growth curves of *Pa. lutheri* (a) and *Ph. tricorutum* (b) in the reactor at various light intensities of red LED.

반응기 깊숙이 전달될 수 있게 해주며 방울의 상승작용이 유체의 흐름과 수직 방향으로의 혼합을 유도해 세포가 고농도로 성장함에 따라 세포 상호간에 빛을 가리게 되는 그림자 효과 (mutual shading)를 줄임으로써 균체 농도를 상승시키는데 긍정적인 효과를 나타낸다. 또한 sparging의 경우 광합성의 유일한 탄소원인 공기 중에 포함된 이산화탄소를 광생물반응기 내에 공급함으로써 에너지원 공급의 이중효과가 있으므로 [23,26], 공기 공급 (sparging)에 따른 *Pa. lutheri*와 *Ph. tricorutum*의 성장에 미치는 영향을 파악하기 위해 공기 공급 속도를 0~2.4 aeration volume/medium volume/minute (vvm)으로 달리하였으며, red LED를 이용하여 3,100 Lux 조건에서 실험하였다.

*P. lutheri*의 경우 공기 공급 속도가 0.4 vvm, 0.8 vvm, 1.6 vvm에서 비증식 속도는 0.56, 0.57, 0.54 day<sup>-1</sup>로 유사한 값을 얻었으나, 2.4 vvm의 경우 비교적 낮은 0.49 day<sup>-1</sup>의 결과를 얻었다. 그러나 4가지 공급 속도에서 비슷한 성장 곡선을 그렸다. 또한 공기를 주입하지 않은 성장과 비교하여 볼 때, 배양 8일 이후 공기 주입 여부에 따라 세포농도는 크게 차이를 보이며 급격히 성장하여 최대 세포 농도는 5배 이상 증가하

였다 (Fig. 4(a)). 이는 공기를 주입하였을 경우 교반으로 인해 혼합을 유도함으로써, 세포농도가 증가 하였을 때 세포 상호간에 빛을 가리는 현상을 줄여 빛을 효율적으로 전달받게 된다. 즉 단위 면적당 세포가 받는 광량이 증가하게 되어 광합성 효율을 증가시켜 세포 분열 속도가 증가한 것으로 보인다 [27]. 또한 0.4~2.4 vvm의 공기 공급 속도에서 최대 비성장 속도 및 균체농도는 큰 차이를 보이지 않았으므로, 공기 공급에 따른 에너지 투입에 소모 되는 비용을 고려해 볼 때 *P. lutheri*의 배양에 있어서 0.4 vvm 이상의 공급 속도를 사용할 경우 비용에 대한 효율은 낮아짐을 알 수 있다.

*Ph. tricorutum*의 성장의 경우, *Pa. lutheri*의 실험에서와 같이 공기 공급에 의한 긍정적인 효과를 보였다. 배양 6일 이후 공기 주입 여부에 따라 세포농도는 크게 차이를 보이며 공기를 주입하지 않은 경우보다 최대 세포 농도는 2배 이상 증가하였다 (Fig. 4(b)). 0.4 vvm, 0.8 vvm, 1.6 vvm에서 비증식 속도는 0.78 day<sup>-1</sup>로 동일한 값을 얻었으며, 2.4 vvm에서 0.7 day<sup>-1</sup>로 가장 낮은 값을 얻었다. 또한 공기 공급에 따른 *Ph. tricorutum*의 성장 특성은 가장 낮은 공급 속도인 0.4 vvm에서 최대 세포농도는 7.94×10<sup>6</sup> cells/mL로 가장 낮은 농도를 얻

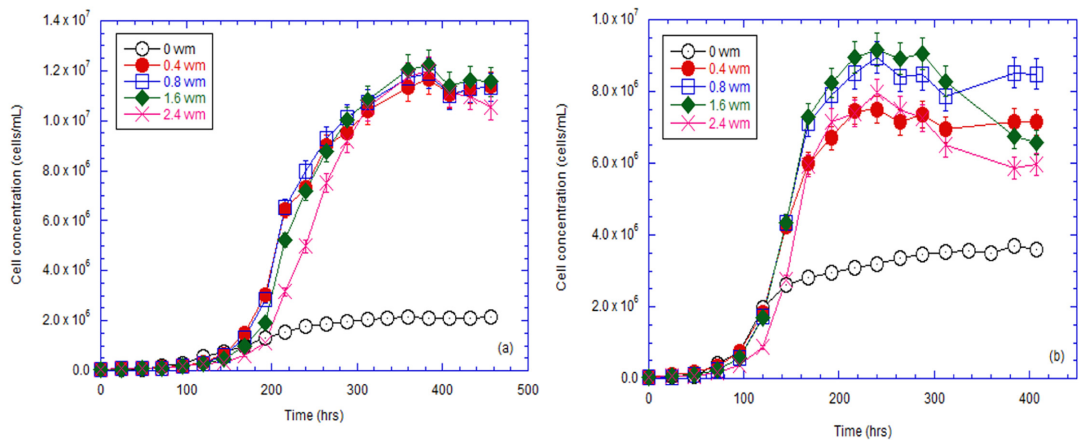


Fig. 4. Growth curves of *Pa. lutheri* (a) and *Ph. tricorutum* (b) in the reactor at different air flow rates.

었으며, 공급 속도를 높인 0.8 vvm~1.6 vvm에서 최대 세포 농도는 증가하였다. 하지만 가장 높은 공급속도인 2.4 vvm에서 최대 세포농도는  $7.96 \times 10^6$  cells/mL로 다시 감소하여, 0.4 vvm에서 얻는 농도와 비슷한 값을 얻었다. 이는 0.8 vvm과 1.6 vvm에서 얻은 최대 세포농도 ( $9.14 \times 10^6$ ,  $9.17 \times 10^6$  cells/mL)보다 약 1.2배 낮은 농도이다. 교반이 *Ph. tricoratum*에 미치는 영향을 조사한 연구에서 교반 속도를 150 rpm에서 350 rpm로 증가시켰을 경우 세포 농도는 점차적으로 증가하였으나, 추후 550 rpm까지 증가시켰을 경우 세포농도가 150 rpm와 비슷한 농도로 감소한 결과와 매우 유사하다 [28]. 이는 순환 유동이 매우 높을 경우 단위 시간당 세포가 받는 빛은 증가하지만, 조도 범위 안에서 세포가 머무르는 시간이 매우 짧아지므로 세포가 빛에너지를 충분히 흡수하지 못하기 때문이라 생각된다 [29]. 또한 공기 공급 속도가 비교적 낮은 0.4~0.8 vvm인 경우 최대 농도에 도달한 이후 안정한 상태를 보였으나, 1.6~2.4 vvm의 경우 배양 10일 후 세포 농도가 감소하는 경향을 보였다. 이는 공기 공급 속도를 일정 속도 이상 증가시킬 경우 공기방울의 마찰로 인하여 세포에 물리적 손상을 입히는 것으로 보여진다. 그러므로 *Ph. tricoratum*의 경우 0.8 vvm의 공급속도에서 가장 효과적인 것으로 판단된다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 LED를 광원으로 하여 *Pa. lutheri*와 *Ph. tricoratum*의 최적 성장에 미치는 영향을 알아보고 효율적으로 배양하기 위해 파장, 광도 및 공기주입을 달리하여 배양하였다. *Pa. lutheri*의 배양에서 파장을 달리하여 공급하였을 때, 최대 비성장 속도는 다소 차이를 보였으나 최대 세포농도는 모두 비슷한 농도를 얻으며 성장에는 큰 차이 없이 유사한 성장 변화를 보였다. *Ph. tricoratum*의 경우 red LED에서 성장 속도가 가장 빨랐고 가장 높은 최대 균체농도를 얻었다. red LED를 이용하여 광도에 따른 성장 특성을 실험한 결과 *Pa. lutheri*는 광도가 증가함에 따라 성장효율이 증가하였다. *Ph. tricoratum*의 배양 결과 광도에 따른 뚜렷한 성장 변화를 보였으며, 광도가 높을수록 효율이 증가하여 3,100 Lux에서 가장 높은 성장 속도와 최대 세포 농도를 얻었다. *Pa. lutheri*의 공기 공급 속도 (0.4 vvm, 0.8 vvm, 1.6 vvm, 2.4 vvm)에 따른 성장 특성을 살펴보았을 때 4가지 공급 속도에서 비슷한 성장 곡선을 그렸으며, 이는 0.4 vvm 공급 속도만으로도 좋은 효율을 얻을 수 있을 것이라 판단된다. 또한 공기 주입여부에 따라 세포농도는 크게 차이를 보이며 급격하게 성장하여 공기를 주입하지 않은 경우보다 5배 이상 높은 세포 농도를 얻었다. *Ph. tricoratum*의 성장의 경우, *Pa. lutheri*의 실험에서와 같이 공기 공급에 의한 긍정적인 효과를 보이며 공기를 주입하지 않은 경우보다 최대 세포 농도는 2배 이상 증가하였다. 1.6~2.4 vvm 속도의 경우 일정 시간 후 세포 농도가 감소하는 경향을 보였다. 이는 공기 공급 속도 증가로 인해 공기방울의 마찰의 영향으로 세포에 물리적 손상을 입히는 것으로 생각

된다. 그러므로 *Ph. tricoratum*의 경우 0.8 vvm의 공급 속도에서 가장 효과적인 것으로 판단된다.

#### 감사의 글

이 연구는 한국연구재단 일반연구자지원사업(2010-0024598)의 지원으로 수행되었습니다.

#### REFERENCES

- Choi, S. H., Y. T. Oh, and J. K. So (2006) Characteristics of exhaust emission by the application of biodiesel fuel and Oxygenates as an alternative fuel in an agricultural diesel engine. *J. Biosyst. Eng.* 31: 457-462.
- Lim, Y. K., S. C. Shin, E. S. Yim, and H. O. Song (2008) The effective product method of biodeisel. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 19: 137-144.
- Park, J. I., H. C. Woo, and J. H. Lee (2008) Production of bioenergy from marineAlgae: Status and perspectives. *Korean Chem. Eng. Res.* 46: 833-844.
- Agarwal, A. K. (2007) Biofuel (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion Engines. *Progr. Energ. Combust. Sci.* 33: 233-271.
- Apt, K. E. and P. W. Behrens (1999) Commercial developments in microalgal biotechnology. *J. Phycol.* 35: 215-226.
- Sivonen, K. (1996) Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia* 35: 12-24.
- Brown M. R., S. W. Jeffrey, J. K. Volkman, and G. A. Dunstan (1997) Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151: 315-331.
- Ponis E, G. Parisi, J. R. LeCoz, C. Zittelli, and M. R. Tredici (2006) Effect of the culture system and culture technique on biochemical characteristics of *Pavlova lutheri* and its nutritional value for *Crassostrea gigas* larvae. *Aquac. Nut.* 12: 322-329.
- Javanmardian, M. and B. O. Palsson (1991) High density photoautotrophic cultures - Design, donstruction and operation of a noble photobioreactor system. *Biotechnol. Bioeng.* 38: 1182-1189.
- Pulz, O., N. Gersch, and R. Buchholz (1995) Light energy supply in plate and light diffusing optical fiber bioreactors. *J. Appl. Phycol.* 7: 145-149.
- Sanchez, S., M. E. Martinez, and F. Espinola (2000) Biomass production and biochemical variability of the marine microalga *Isochrysis galbana* in relation to culture medium. *J. Biochem. Eng.* 6: 13-18.
- Bouaran, G., L. L. Dean, E. Lukomska, R. Kaas, and R. Baron (2003) Transient initial phase in continuous culture of *Isochrysis galbana affinis Tahiti*. *Aquat. Living Resours.* 16: 389-394.
- Patil, V., R. Kallqvist, E. Olsen, G. Vogt, and H. Gislerod (2007) Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquacult. Int.* 15: 1-9.
- Burgess, J. G., K. Iwamoto, Y. Miura, H. Takano, and T. Matunaga (1993) An optical fiber photobioreactor for enhanced production

- of the marine unicellular alga *Isochrysis* aff. *Galbana T-Iso* (UTEX LB2307) rich in docosahexaenoic acid. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 39: 456-459.
15. Tredici, M. R., P. Carozzi, G. C. Zittelli, R. Materassi (1991) A vertical alveolar panel (VAP) for outdoor mass cultivation of microalgae and cyanobacteria. *Bioresour. Technol.* 38: 153-160.
  16. Ojala, A. (1993) Effects of temperature and irradiance on the growth of two freshwater Photosynthetic cryptophytes. *J. Phycol.* 29: 278-284.
  17. Han, B. P. (2002) A mechanistic model of photo-inhibition induced by photodamage to photosystem. *J. Theor. Biol.* 214: 519-527.
  18. Mata, T. M., A. A. Martins, and N. S. Caetano (2010) Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 14: 217-232.
  19. Oh, S. Y., J. U. Jo, S. H. Gang, S. M. Lee, J. K. Yang, J. S. Lee, and D. H. Park (2009) Study on thermal and optical properties of LED street lighting module. *Summer Conference of Kieeme*, 10: 273-274.
  20. Chen, C. Y., G. D. Saratale, C. M. Lee, P. C. Chen, and J. S. Chang (2008) Phototrophic hydrogen production in photo-bioreactors coupled with solar-energy-excited optical fibers. *Int. J. Hydrogen Energ.* 33: 6878-6885.
  21. Wang, C. Y., C. C. Fu, and Y. C. Liu (2007) Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochem. Eng. J.* 37: 21-25
  22. Katsuda, T., A. Lababpour, K. Shimahara, and S. Katoh (2004) Astaxanthin production by *Haematococcus pluvialis* under illumination with LEDs. *Enzyme Microb. Technol.* 35: 81-86.
  23. Lee, C. G. and B. O. Palsson (1994) High-density algal photo-bioreactors using light-emitting diodes. *Biotechnol. Bioengr.* 44: 1161-1167.
  24. Yun, H. Y. (2006) *Growth of culture environment on food organism*. M. D. Thesis. University of Mokpo, Chonnam, Korea.
  25. Haff, F. H. and T. W. Snell (2008) *Plankton Culture Manual*. pp. 186. Florida Aquafarms, Inc., Dade City, Florida, USA.
  26. Ichimi, K., Meksumpun, S. and Montani, S (2003) Effects of light intensity on the cyst germination of *Chattonella* sp. (Raphidophyceae). *Plankton Biol. Ecol.* 50: 22-24.
  27. Sukenik, A., J. Bennett, A. Mortain-Bertrand, and P. G. Falkowski (1990) Adaption of the photosynthetic apparatus to irradiance in *Dunaliella tertiolecta*. *Plant Physiol.* 92: 891-898.
  28. Sobczuk, T. M., F. G. Camacho, E. M. Grima, and Y. Chisti (2006) Effects of agitation on the microalgae *Phaeodactylum tricoratum* and *Porphyridium crentum*. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 28: 243-250.
  29. Zhu, Y. H., and J. G. Jiang (2008) Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of  $\beta$ -carotene. *Eur. Food Res. Technol.* 227: 953-959.